Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin
(Direktor i. V.: Prof. Dr. Zeiss)

Die reduzierenden Fermentwirkungen des Bazillus Putrificus.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der

Zahnärztlichen Doktorwürde

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von

Rudolf Karl Strecker
aus Berlin

Tag der Promotion: 23. 11. 1936.

Druck: Karl u. Richard Hoffmann, Charlottenburg, Schillerstr. 44.

588

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Siebeck
Referent: Priv.-Doz. Dr. Ehrismann
Korreferent: Prof. Dr. Zeiss.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern

gewidmet.

suchen. Da die Dehydrierung unter sauerstoffreien Bedingungen vor sich geht, hat sie gerade für die Anaerobier eine besondere Bedeutung zur Bestimmung von Energiequellen; auch können nur solche Stoffe zum Aufbau der Mikrobenzelle Verwendung finden, die durch das Bakterium fermentativ angegriffen werden. Zur Verwendung kam ein Stamm des Bazillus Putrificus aus dem Hygienischen Institut Berlin. Als Indikator kam die Methode von Thunberg in Anwendung.

Die Versuchsanordnung ist folgende: Man bringt in ein Thunberg-Röhrchen geeignete Methylenblaulösung — nach Reich u. a. ist die Konzentration 1:10 000 die gegebene — als H Akzeptor; das zu untersuchende Substrat als H Donator und Bakterienaufschwemmung. Um Genauigkeit des Versuches zu erreichen, muß die über der Flüssigkeit stehende Luft mittels einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt werden. Andernfalls wäre Richtigkeit im Beobachten der Reaktion nicht möglich; denn das entstehende Leukomethylenblau würde sich durch Zutritt von O wieder zu Methylenblau oxydieren. Die Thunberg-Röhrchen werden in ein auf 37 ° C gehaltenes Wasserbad gebracht, in dem die Reaktion erfolgt.

Methylenblau, Substrat und Bakterien wurden in steriler phosphatgepufferter, physiologischer NaCl-Lösung mit einem pH von 7,5 gelöst bzw. suspendiert. Methylenblau wurde in einer Konzentration von 1:10 000, das zu untersuchende Substrat in 0,1 bzw. 0,02 mol, verwandt.

Bakterienaufschwemmung.

Untersucht wurde ein Stamm Purtificus aus dem Hygienischen Institut Berlin. Mehrere Reagenzröhrchen mit ca. 6—8 ccm Tarozzibouillon wurden beimpft und bei 37 ° C 24 Stunden bebrütet. Der Inhalt dieser Röhrchen wurde auf einen $^1/_2$ l-Kolben Cystein-Bouillon (2 % Cystein + 1 % Traubenzucker) überimpft und wiederum 24 Stunden bebrütet bei 37 ° C. Die so gewonnene Bakterienmenge wurde abzentrifugiert und 2mal in phosphat-gepufferter physiologischer NaCl-Lösung mit einem pH von 7,5 gewaschen und danach in gleicher Lösung suspendiert.

Das 2-malige Waschen war erforderlich, um die in dem Nährboden enthaltenen H-Donatoren zu entfernen. Damit wurde verhindert, daß die Kontrolle, der anstatt Substrat nur physiologische NaCl-Lösung zugegeben war, sich nicht gleichfalls schnell unter Einwirkung der evtl. vorhandenen H-Donatoren entfärbte. Ein 3-maliges Waschen vertrugen die Anaerobier schlecht. Die Reaktion erfolgte dann trotz stärkerer Konzentration äußerst schlecht. Es war anscheinend eine zu starke Schädigung der Bakterienleiber, evtl. ein Auswaschen von Fermenten, wahrscheinlich Cofermenten eingetreten.

Diese Empfindlichkeit steht der äußerst hohen Resistenz anderer Bakterienarten, z. B. der säurefesten Stäbchen gegenüber. So hatte sich bei eigenen Untersuchungen von Smegmabazillen gezeigt, daß jene auch durch 5 und mehrmaliges Waschen die H-Donatoren nicht abgaben, so daß es nicht möglich war, auf diese Art ein Bild von der Einwirkung der Substrate auf die Reduzierfähigkeit der Bakterien zu bekommen.

Kontrolle ohne H-Donator und Versuch mit H-Donator zeigten die gleichen Dehydrierungszeiten. Es wird einer späteren Arbeit vorbehalten sein, die geeigneten Wege der Untersuchung bei dieser Bakterienart zu finden.

Zu den Versuchen wurden nur Aufschwemmungen benutzt, deren Bakterien 24 Stunden bebrütet waren. Längere Bebrütungszeiten gaben trotz stärkerer Bakteriendichte schlechtere Resultate. Die Bakterien hatten an Aktivität verloren. Dasselbe fand Rejch bei Streptococcen. So ergab eine 72 Stunden währende Bebrütung bei Na-Laktat als H-Donator nach 1 Stunde Beobachtung nur geringe Aufhellung.

Sporen hatten sich nicht gebildet. Auch nach 6-tägiger Bebrütung eines Reagenzröhrchens (Tarozzibouillon) zeigte sich keine Sporenbildung.

Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu denen von Zeissler (11). Er beschreibt Putrificusstämme, die, allerdings auf eiweißreichen Nährmedien, schon nach 30 Stunden Sporen bilden und nach 60 Stunden kaum noch unversporte Individuen erkennen lassen.

Die Menge der Bakterien in den Aufschwemmungen wurde mit Hilfe des Mollschen Trübungsmessers festgestellt. Sie entsprach im Durchschnitt einer Bakterienzahl von 15000 Mill/ccm, also ca. 3mal so viel wie bei den Streptococcen (Rejch). Geringere Dichte gab langsamere Reduzierzeiten, die dann Vergleiche mit den einzelnen Substraten dieser Arbeit und insbesondere mit den Ergebnissen anderer Arbeiten nicht zuließen. Genaue Angaben der Dichte liegen jeder Tabelle bei. Hier möchte ich erwähnen, daß oft trotz höherer Bakterienzahl die Dehydrierungszeit langsamer war als bei Versuchen, bei denen die Dichte der Aufschwemmung eine geringere war. Vielleicht liegen äußere Einflüsse, wie Temperatur der Suspensionslösung, Dauer des Waschens oder auch Eigenheiten der Anaerobier vor.

Da eine Aufschwemmung nur die Prüfung einer geringen Zahl Substrate zuließ, mußte ein Standardstoff genommen werden, um zwischen den einzelnen Tabellen Vergleichsmöglichkeiten zu erhalten.

Als geeignet erwies sich Na-Laktat. Jedes Substrat wurde mehrmals untersucht, um ein möglichst klares Bild erhalten.

Tabelle I. Bakteriendichte 11 792 Mill/ccm

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	32	30	31	
Na-Laktat	7	7,5	7	++++
Glukose	8	7,5	7	++++
Saccharose	7	7	7	++++
Maltose	7	8	7,5	++++
Laktose	8	10	9	++++
Lävulose	7	7	7	++++
Mannose	20	14	14	+++
Mannit	15	19	20	++
Stärke	12	10	10	+++
Galaktose	21	24	23	++

Tabelle II. Bakteriendichte 12 672 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	63	69		
Na-Laktat	10	11	10	++++
Saccharose	12	10	12	++++
Maltose	14	13	12,5	++++
Arabinose	25	28	29	+++
Xylose	19	19	20	+++
Sorbit	12	14	20	++++
Dulcit	34	51	nach 1 Std. heller aber nicht entfärbt	(—)+
Erythrit	nach 1 Std. heller aber nicht entfärbt			—

Tabelle III. Bakteriendichte 9 680 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	44	42		
Na-Laktat	7	15	13	+++
Glukose	19	17		+++
Maltose	12	8		+++
Methylalkohol	15	13	17	+++
Aethylalkohol	4	3	4	++++
Propylalkohol	5	4	4	++++
Butylalkohol	4	5	4,5	++++
Glykol	16	20	17	+++
Glycerin	16	15,5	14	+++

Tabelle IV. Bakteriendichte 16 016 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	77	110 nach 2 Std. heller		nicht entf.
Na-Laktat	10	11		++++
Glukose	9,5	10	9,5	++++
Saccharose	10	10,5	10,5	++++
Maltose	9	9	8,8	++++
Glykol	8	9	10	++++
Adonit	heller. nicht entfärbt nach 2 Std.			—
Erythrit	46	42	47	++
Sorbit	14	13	13	+++
Dulcit	35	44	heller	++

Tabelle V. Bakteriendichte 13 552 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	35	42	33	
Na-Laktat	12	14		+++
Acetaldehyd (0,1)		nicht entfärbt		—
Propylaldehyd (0,1)	nicht entfärbt	39	60	—
Amylalkohol		nicht entfärbt		—
Formaldehyd (0,02)		nicht entfärbt		—
Amylalkohol (0,02)		nicht entfärbt		—
Glukose	15	16		+++

Tabelle VI. Bakteriendichte 12 144 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	82	58		
Na-Laktat	14	13		++++
Glukose	12	13		++++
Propylalkohol (0,02)	17	19	20	++++
Adonit		nicht entfärbt		—
Glycerinaldehyd (0,1)		nicht entfärbt		—
Formaldehyd (0,02)		nicht entfärbt		—

Tabelle VII. Bakteriendichte 14 256 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	36	37	47	
Na-Laktat	8	8		++++
Glycerinaldehyd (0,02)	18	22	18	++
Formamid	25	31	30	+
Succinamid	12	14	17	+++
Karbamid	26	22,5	24	++
Acetamid	33	35	30	+
Weins. Na.	16	21	undicht	++

Tabelle VIII. Bakteriendichte 13 904 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	37	33		
Na-Laktat	8	8		++++
Weins.-Na	24	25	25	+
Acetamid	23	28	26	+
Na-formicicum	42	39	44	—
Na-acetat		nicht entfärbt		—
Bernsteins.-Ammonium	18	21	32	—
Propions.-Na		nicht entfärbt		—

Tabelle IX. Bakteriendichte 13 552 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	54	49		
Na-Laktat	9	7		++++
Maltose	5	6		++++
Weins.-Na	38,5	37,5		+
Na-formicicum	nach 1 Std. heller, nicht entfärbt			—
Na-acetat	40	18	39	+
Bernsteins.-Ammonium		nicht entfärbt		—
Na-oxalat	37	37	38	+

Tabelle X. Bakteriendichte 17 424 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	36	36		
Na-Laktat	8	7		++++
Bernsteins.-Ammonium		nicht entfärbt		—
Na-fumaricum	3	4	4	++++
Na-citrat	5	5	4	++++
Propions.-Na		nicht entfärbt		—

Tabelle XI. Bakteriendichte 16 720 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	15	17		
Na-Laktat	7	7		++
Malonsäure	3	3	4	++++
Apfels.-Ammonium	6	6	6	++++
Butters.-Ammonium	13	11	14	+
Propions.-Na		nicht entfärbt		—

Tabelle XII. Bakteriendichte 16 016 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	28	29	32	
Na-Laktat	7	7		++++
Bernsteins.-Ammonium		nicht entfärbt		—
Brenztraubensäure	2	2	2	++++
Kreatin	26	24		+
Mesoweinsäure	17	17	14	++
Butters.-Ammonium	25	24	25	+
Glycerinsäure	8	9	13	++++
Glutaminsäure	17	17	18	++

Tabelle XIII. Bakteriendichte 16 720 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0.1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	36	39		
Na-Laktat	8	8		++++
Glutarsäure	31	29	22	++
Harnsäure (gesätt. Lsg.)	35	35	35	+
Kreatinin	63	63		—
Asparagins.-Na	16	15,5	15,5	++
Asparagin	17	16	16	++
Alanin	4	3	4	++++

Tabelle XIV. Bakteriendichte. 14 256 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1 Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	69	73		
Na-Laktat	11	15		++++
Glutarsäure	37	41		++
Kreatin	66	59		+
Cystin (gesätt. Lsg.)	nicht entfärbt			—
Glykokoll	67	68	nicht entfärbt	—
Leucin	8	8	10	++++
Tyrosin (gesätt. Lsg.)	17	17	21	++++
Guanidin	nicht entfärbt			—

Tabelle XV. Bakteriendichte 12 496 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	69	71		
Na-Laktat	10	11		++++
Guanidin	nicht entfärbt			—
Glykokoll	35	47	80	+
Tryptophan	28	30	29	++
Cystein	4	4	4	++++
Cystein ohne Bakterien	6	7		+++

Tabelle XVI. Bakteriendichte 15 664 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	62	46		
Na-Laktat	11	11		++++
Sarkosin	21	25	20	+++
Glykokoll	34	30	45	+
Raffinose (0,02)	5	6	6	++++
Inulin (0,02)	27	23	25	++
Cystin		nicht entfärbt		—
Cystin ohne Bakterien		nicht entfärbt		—

Tabelle XVII. Bakteriendichte 14 608 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	39			
Na-Laktat	19			++
Betain	50	42		—
Rhamnose (0,02)	43	44		—
Kreatinin	39	39		—

Tabelle XVIII. Bakteriendichte 10 648 Mill/ccm.

Wasserstoffdonatoren in 0,1 mol Konzentr.	Zeit der Dehydrierung in Minuten 1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Ergebnis
Donatorfreie Kontrolle	35	40		
Na-Laktat	7	9		++++
Betain		nicht entfärbt		—
Propionamid		nicht entfärbt		—

Reduktion von Methylenblau durch Anaerobier (Bac. Putrificus)

Substrat	Ausfall der Reaktion
I. Organ. Säuren.	
Ameisensäure	— —
Essigsäure	+ (—)
Propionsäure	— — —
Buttersäure	+
Milchsäure	+ + + +
Brenztraubensäure	+ + + +
Bernsteinsäure	— —
Fumarsäure	+ + + +
Oxalsäure	+
Glutarsäure	+ +
Malonsäure	+ + + +
Äpfelsäure	+ + + +
Weinsäure	+
Zitronensäure	+ + + +
Mesoweinsäure	+ +
II. Alkohole.	
Methylalkohol	+ + +
Äthylalkohol	+ + + +
Propylalkohol	+ + + +
Butylalkohol	+ + + +
Amylalkohol (0,1 + 0,02 mol)	— — — —
Äthylenglykol	+ + +
Glycerin	+ + +
Erythrit	+ +
Adonit	— — —
Mannit	+ +
Dulcit	— +
Sorbit	+ + + +
III. Aldehyde.	
Formaldehyd (0,1 + 0,02 mol)	—
Acetaldehyd	— —
Propylaldehyd (0,1 mol)	+ —
Propylaldehyd (0,02 mol)	+ + +
Glycerinaldehyd (0,1 mol)	—
Glycerinaldehyd (0,02 mol)	+ +

Substrat		Ausfall der Reaktion
IV. Kohlehydrate.		
Pentosen:	Arabinose	
	Xylose	
	Rhamnose	
Hexosen:	Glukose	
	Mannose	
	Galaktose	
	Lävulose	
Hexobiosen:	Saccharose	
	Laktose	
	Maltose	
Hexotriosen:	Raffinose (0,02 mol)	
Polyosen:	Stärke (gesättigte Lösg.)	
	Inulin (0,02 mol)	
V. Aminosäuren.		
	Glykokoll	
	Sarkosin	
	Betain	
	Alanin	
	Leucin	
	Cystein	
	Cystein ohne Putrificus	
	Cystin	
	Asparagin	
	Asparaginsäure	
	Glutaminsäure	
	Tryptophan	
	Tyrosin	
VI. Amide.		
	Formamid	
	Acetamid	
	Propionamid	
	Succinamid	
	Carbamid	
	Guanidin	
	Harnsäure (gesättigte Lsg.)	
	Kreatin	
	Kreatinin	

In den Tabellen bedeutet:
++++ sehr gutes, +++, ++, + gutes bis schwaches, — negatives Ergebnis.

Besprechung der Tabellen.

Kohlehydrate.

Ueberblickt man die Tabellen, so sieht man, daß die Zucker zu den best wirksamen H-Donatoren gehören.

Von den Pentosen wirken die Aldopentosen: Xylose und Arabinose gut. Xylose etwas besser. Dagegen wird Methylenblau in Gegenwart von Rhamnose nicht dehydriert.

Bei den Aldohexosen sind Glukose sehr gut, Mannose gut und Galaktose nur wenig schwächer als Mannose in ihrer Wirkung.

Die Ketohexose: Lävulose kommt der Glukose gleich.

Die Hexobiosen: Saccharose und Maltose wirken sehr gut. Sie zeigen die gleichen Dehydrierungszeiten wie Glukose. Laktose ist ein wenig schwächer.

Die Hexotriose: Raffinose, die in Glukose, Fruktose und Galaktose gespalten wird, wirkt äußerst stark.

Die Polyose: Stärke wurde langsamer als Laktose, doch schneller als Mannose dehydriert. Von Inulin wurde eine gesättigte Lösung verwandt. Die Dehydrierungszeit entspricht der, der Arabinose.

Alkohole.

Nach den Zuckern wurden die Alkohole auf ihre dehydrierende Wirkung untersucht. Von den einwertigen war Aethylalkohol der wirksamste. Nur unbedeutend schwächer waren Propyl und Butylalkohol. Alle drei beeinflußten die Dehydrierung stärker als Na-Laktat oder Glukose und Maltose. Methylalkohol war langsamer, doch noch gut. Amylalkohol wirkte nicht.

Glykol als zweiwertiger Alkohol wirkte etwas schlechter als Maltose. Der dreiwertige Glycerin kam dem Methylalkohol in seiner Wirkung gleich.

Von den mehrwertigen Alkoholen wurde Sorbit sehr gut abgebaut; nur wenig langsamer als Na-Laktat. Mannit war etwas schwächer. Erythrit und Dulcit zeigten schon eine dreimal längere Dehydrierungszeit als Sorbit, während Adonit nicht entfärbte.

Aldehyde.

Bei den aliphatischen Aldehyden mußte daran gedacht werden, daß sie noch in starker Verdünnung eiweißfällend, also bakterientötend wirkten. So gaben sämtliche Aldehyde in 0,1 mol Konzentration negative Resultate, während in 0,02 mol Propylaldehyd nur 5 Minuten langsamer wirkte als Na-Laktat. Auch Glycerinaldehyd gab ein positives Ergebnis. Dagegen zeigten Formaldehyd und Acetaldehyd keine Dehydrierung.

Säureamide.

Von ihnen wirkt Succinamid am besten, doch schwächer als Glukose. Karbamid, Formamid und Acetamid dehydrieren mäßig; Propionamid nicht.

Org. Säuren.

Milchsäure, Brenztraubensäure, Fumarsäure, Malonsäure, Apfelsäure und Citronensäure wurden sehr gut angegriffen. Glutarsäure und Mesoweinsäure gingen gut bis mäßig, während Weinsäure, Oxalsäure, Buttersäure und Essigsäure nur schwach wirkten. Ameisensäure, Bernsteinsäure und Propionsäure entfärbten nicht.

In den Fällen, in denen die Substrate nicht in Form neutraler Salze vorhanden waren, mußten die Lösungen auf ein pH von 7,5 gebracht werden. Mesoweinsäure, Malonsäure, Glutarsäure, Brenztraubensäure.)

Aminosäuren und andere stickstoffhaltige Substrate.

Sehr gut wirksam waren Alanin und Cystein, die den schnell wirkenden Alkoholen gleichkamen. Danach folgten Leucin, Tyrosin, Sarkosin, Glutaminsäure, Tryptophan, Asparagin und Asparaginsäure. Nur schwach dehydrierten Harnsäure, Kreatin und Glykokoll. Nicht entfärbten Guanidin, Kreatinin, Betain und Cystin. Glutaminsäure und Harnsäure wurden neutralisiert. (pH 7,5).

Harnsäure und Tyrosin wurden als gesättigte Lösungen verwandt.

Ferner wurden Versuche mit Cystin und Cystein ohne Bakterienzusatz gemacht. Cystein wirkte stark reduzierend; Cystin nicht.

Bei Betrachtung der Tabellen fällt auf, daß bei einigen Substraten die Entfärbung später als die Kontrolle oder gar nicht eintrat.

Hier ist daran zu denken, daß diese Substrate durch den Putrificus nicht zu H-Donatoren sondern zu H-Akceptoren aktiviert wurden; eine Tatsache, auf die von Braun u. Wördehoff, gelegentlich der Untersuchungen des Ruhrbakterium Flexner hingewiesen worden ist.

Säurebildung bei den Kohlehydraten und Alkoholen durch die Fermente des Putrificus.

Es ist bekannt, daß sowohl durch biologische Oxydationen, als auch durch Bakterien aus bestimmten Kohlehydraten und Alkoholen Säuren gebildet werden.

Es galt die Frage zu beantworten, wieweit unser Stamm des Bacillus Putrificus diese Fähigkeiten besitzt und ob dieselben dem Dehydrierungsvermögen gegenüber den betreffenden Kohlehydraten parallel geht.

Es wurden 0,1 ccm Bakterienaufschwemmung in Reagenzgläser überimpft, die ca. 5 ccm Nährboden (4 % Peptonwasser mit Leber und je 1 % Kohlehydrat bzw. Alkohol und 8 % Lackmuslösung) enthielten.

Geprüft wurden: Arabinose, Xylose, Glukose, Mannose, Galaktose, Lävulose, Saccharose, Laktose, Maltose, Stärke, Inulin, Methyl-, Aethyl-, Propyl-, Butylalkohol, Aethylenglykol, Glycerin, Mannit, Erythrit, Sorbit und Dulcit.

Nach einer Bebrütung von 24 Stunden bei 37 ° C zeigten nur wenige eine Rotfärbung. Bei den meisten war der Farbstoff zersetzt. Nach Zusatz von einigen Tropfen Lackmuslösung trat intensive Rotfärbung ein.

Das Ergebnis: Der Putrificus hatte bei allen Stoffen Säurebildung hervorgerufen.

Vergleicht man dieses Ergebnis mit der Dehydrierung der betreffenden Substrate, so zeigt sich, daß alle diese Stoffe auch gut reduzieren.

Es ist also wahrscheinlich, daß solche Säuren gebildet werden, die durch die Bakterienfermente besonders gut dehydriert werden.

Die Reduzierbarkeit anderer Farbstoffe durch Anaerobier. (Putrificus)

Nachdem Methylenblau als H-Akzeptor und verschiedene Substrate als H-Donator untersucht worden waren, war die Frage zu beantworten, wie andere Farbstoffe als H-Akzeptor brauchbar sein würden. Es wurden 22 verschiedene Farbstoffe untersucht. Na-Laktat diente als H-Donator. Gleichzeitig wurde von jedem Farbstoff eine donatorfreie Kontrolle anstatt Substrat physiologische NaCl-Lösung angesetzt. Um Vergleichsmöglichkeiten zu haben, wurde bei jeder Versuchsreihe ein Versuch mit Methylenblau als H-Akzeptor gemacht.

Tabelle A. Bakteriendichte 14 256 Mill/ccm.

	Dehydrierungszeit in Minuten
Methylenblau	
+ Laktat	14
+ NaCl	—
Thionin	
+ Laktat	5
+ NaCl	—
Indigotetrasulfonat	
+ Laktat	nach 25 Farbumschlag über Grün in Gelb
+ NaCl	—
Indigomonosulfonat	
+ Laktat	2
+ NaCl	—
Phenosafranin	
+ Laktat	—
+ NaCl	—
Lackmus 1 : 20	
+ Laktat	nach 23 Aufhellung
+ NaCl	—
Lackmus 1 : 10	
+ Laktat	—
+ NaCl	—
Gallocyanin	
+ Laktat	Farbumschlag in Braun
+ NaCl	—

Tabelle B. Bakteriendichte 8360 Mill/ccm.

	Dehydrierungszeit in Minuten
Methylenblau	
+ Laktat	9
+ NaCl	20
Rosindulin	
+ Laktat	—
+ NaCl	—
Naphthol	
+ Laktat	6
+ NaCl	9
Nilblau	
+ Laktat	10
+ NaCl	—
Brillantkresylblau	
+ Laktat	15
+ NaCl	27
Indigodisulfonat	
+ Laktat	nach 50 Farbumschlag über Grün in Gelb
+ NaCl	—
Indigotrisulfonat	
+ Laktat	nach 29 Farbumschlag über Grün in Gelb
+ NaCl	nach 40 Farbumschlag über Grün in Gelb
Brillantalizarinblau	
+ Laktat	4
+ NaCl	—
Dibromphenol-indophenol	
+ Laktat	—
+ NaCl	—

Tabelle C. Bakteriendichte 13 552 Mill/ccm.

	Dehydrierungszeit in Minuten
Methylenblau	
+ Laktat	9
+ NaCl	—
Cresylviolett	
+ Laktat	36
+ NaCl	—
Bindschedlersgrün	
+ Laktat	18
+ NaCl	43
Janusgrün	
+ Laktat	nach 32 Farbumschlag in Violett
+ NaCl	—
Orthobromphenol-indophenol	
+ Laktat	23
+ NaCl	—
Neutralrot	
+ Laktat	nach 3 Aufhellung doch keine weitere
+ NaCl	— Entfärbung

Tabelle D. Bakteriendichte 10 648 Mill/ccm.

	Dehydrierungszeit in Minuten
Methylenblau	
+ Laktat	9
+ NaCl	40
Pyocyanin	
+ Laktat	6
+ NaCl	—
Dichlorphenol-indophenol	
+ Laktat	1
+ NaCl	3
Neutralrot	
+ Laktat	nach 4 Aufhellung doch keine weitere
+ NaCl	— Entfärbung

Tabelle E. Bakteriendichte 20 592 Mill/ccm.

	Dehydrierungszeit in Minuten
Methylenblau	
+ Laktat	7
+ NaCl	20
Thionin	
+ Laktat	6
+ NaCl	10
Brillantkresylblau	
+ Laktat	13
+ NaCl	31
Indigotetrasulfonat	
+ Laktat	nach 20 Farbumschlag über Grün in Gelb
+ NaCl	nach 31 Farbumschlag über Grün in Gelb
Indigotrisulfonat	
+ Laktat	nach 26 Farbumschlag über Grün in Gelb
+ NaCl	nach 32 Farbumschlag über Grün in Gelb
Indigodisulfonat	
+ Laktat	nach 43 Farbumschlag über Grün in Gelb
+ NaCl	—
Indigomonosulfonat	
+ Laktat	3
+ NaCl	—
Pyocyanin	
+ Laktat	21
+ NaCl	40
Dichlorphenol-indophenol	
+ Laktat	1
+ NaCl	4
Naphthol	
+ Laktat	5
+ NaCl	9
Nilblau	
+ Laktat	18
+ NaCl	29
Gallocyanin	
+ Laktat	nach 21 Farbumschlag über Braun in Rot
+ NaCl	—
Orthobromphenol-indophenol	
+ Laktat	18
+ NaCl	—

Tabelle F. Bakteriendichte 19 536 Mill./ccm.

	Dehydrierungszeit in Minuten
Methylenblau	
+ Laktat	14
+ NaCl	35
Nilblau	
+ Laktat	24
+ NaCl	42
Pyocyanin	
+ Laktat	29
+ NaCl	—
Toluidinblau	
+ Laktat	49
+ NaCl	—
Brillantalizarinblau	
+ Laktat	10
+ NaCl	—
Cresylviolett	
+ Laktat	31
+ NaCl	53
Binschedlersgrün	
+ Laktat	18
+ NaCl	36
Janusgrün	
+ Laktat	nach 38 Farbumschlag in Violett
+ NaCl	—
Toluidinblau	
+ Laktat	52
+ NaCl	-
Dibromphenol-indophenol	
+ Laktat	—
+ NaCl	—
Lackmus 1 : 20	
+ Laktat	nach 34 geringe Aufhellung
+ NaCl	—
Lackmus 1 : 10	
+ Laktat	—
+ NaCl	—
Phenosafranin	
+ Laktat	—
+ NaCl	—
Rosindulin	
+ Laktat	—
+ NaCl	—

— bedeutet keine Entfärbung.

Zusammenstellung der Reduktionszeiten der verschiedenen Farbstoffe in Gegenwart von Na-Laktat 0,1 mol.

E^h		Zeiten in Minuten					
		A.	B.	C.	D.	E.	F.
+ 0,23	o-Bromphenolindophenol			23		18	
+ 0,22	Bindschedlersgrün			18 (43)		18	
+ 0,22	2-6-Dichlorphenolindophenol				1 (3)	1 (4)	
+ 0,22	2-6-Dibromphenolindophenol		—				—
+ 0,12	1-Naphthol-2-sulfonat-indophenol		6 (9)			5 (9)	
+ 0,06	Thionin	5				6 (10)	
+ 0,031	Brillantkresylblau		15 (27)			13 (31)	
+ 0,011	Methylenblau	14	9 (20)	9	9 (40)	7 (20)	14 (35)
+ 0,011	Toluidinblau						49,52
— 0,03	Pyocyanin				6	21 (40)	
— 0,05	Indigotetrasulfonat	—				—	
— 0,08	Indigotrisulfonat		—			—	
— 0,14	Indigodisulfonat		—			—	
— 0,15	Nilblau		10			18 (29)	24 (42)
— 0,16	Indigomonosulfonat	2				3	
— 0,173	Kresylviolett			36			31 (53)
— 0,252	Janusgrün			—			—
— 0,266	Phenosafranin	—					—
— 0,281	Rosindulin		—				—
— 0,340	Neutralrot			—	—		
	Gallocyanin	—				—	
	Lackmus (1: 10, 1: 20)	—					—
	Brillantalizarinblau		4				10

Die Zahlen in den Klammern bedeuten Reduktionszeiten der Kontrollen.

Betrachtet man die Reduktionsgeschwindigkeiten der Farbstoffe im einzelnen, so sieht man, daß jene, die in der Umgegend des Nullpunktes der Redoxskala liegen, wie Methylenblau, Thionin, Brillantkresylblau am besten reduziert werden. Doch bestehen auch Ausnahmen, auf die schon Ehrismann (10) in seiner Arbeit über Diphtheriebakterien hingewiesen hat. So wird zum Beispiel Toluidinblau nur mäßig reduziert, während wieder Stoffe wie Indigomonosulfonat oder Dichlorphenolindophenol sehr gut reduziert werden.

Von den Indigosulfonaten erfahren Tetra- tri- und di-sulfonat nur eine Umwandlung über Grün in Gelb.

Janusgrün wird nach relativ langer Zeit violett, Gallocyanin geht über Braun in Rot.

Auf Lackmus, Phenosafranin, Dibromphenolindophenol und Rosindulin hat der Putrificus keine reduzierende Wirkung.

Neutralrot wird nach 3 4 Minuten heller, entfärbt sich aber nicht weiter.

Zusammenfassung.

In der folgenden Arbeit wurde

I. die Fähigkeit des Anaerobiers Bac. Putrificus nachgewiesen, gewisse Kohlehydrate, Alkohole, organische Säuren, Säureamide, Aminosäuren und andere stickstoffhaltige Substanzen als H-Donatoren zu aktivieren;

II. nachgewiesen, daß bei der Spaltung der Kohlehydrate und Alkohole durch Fermente des Putrificus Säure gebildet wird und Säurebildung und Dehydrierungsgeschwindigkeit einander parallel gehen;

III. die Reduktion verschiedener reversibel oxydierbarer Farbstoffe durch den Putrificus in Gegenwart von Na-Laktat als H-Donator untersucht.

Es ist mir ein Bedürfnis, am Schlusse der Arbeit Herrn Professor Dr. Zeiss und Herrn Privatdozent Dr. Ehrismann für die freundliche Ueberlassung des Themas, sowie für die vielen Anregungen und Unterstützungen meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis

1. Wieland, H.: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. 46, 3327, 1913; 47, 2085, 1914.
2. Lipschitz, W.: Indikatormethoden zum Nachweis von Zelloxydationen. Abderhaldens Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden. Abt. IV, Teil I, H. 3.
3. Ahlgren, G.: Die Methylenblaumethode zum Studium d. biol. Oxydationen. Abderhaldens Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden. Abt. IV, Teil I, H. 4.
4. Quastel, I. H.: Zusammenfassende Darstellungen des Autors.
   a) I. of Hyg. 28, 1928.
   b) Bacterial Enzyme Reactions, Ergebnisse der Enzymforschung, Bd. 1, Leipzig 1932.
   c) Ruhende Bakterien (Resting Bakteria) Handbuch von Oppenheimer-Pincussen, Die Fermente und ihre Wirkungen, Bd. 3, 1928.
5. Braun, H. u. Ph. Wördehoff: Ueber die oxydativen und reduzierenden Fermentwirkungen des Ruhrbazillus Flexner. Zentralblatt f. Bakt. 1933. 128. Bd., S. 50 ff.
6. Braun, H. u. J. v. Vasarhely: Zentralblatt f. Bakt. 1933, 127. Bd., S. 105 ff.
7. Rejch, A.: Ueber die reduzierende Fermentwirkung der Streptokokken gegenüber verschiedenen Substraten. Berl. Diss. 1935.
8. Bolte, W.: Ueber die Fermentwirkung von Staphylokokken gegenüber verschiedenen Substraten. Berl. Diss. 1936.
9. Rühl, S.: Ueber die reduzierende Fermentwirkung von Micrococcus tetragenus und Micrococcus candicans, gegenüber verschiedenen Substraten. Berl. Diss. 1936.
10. Ehrismann, O.: Ueber die reduzierenden Wirkungen der Diphtheriebazillen. Zentralblatt. f. Bakt. I. Abt., 135. Bd., H. 1/3,
11. Zeissler u. Rassfeld: Die anaerobe Sporenflora der europ. Kriegsschauplätze 1917. S. 87 ff.

Lebenslauf.

Ich, Rudolf Karl Strecker, wurde am 25. Oktober 1911 als Sohn des Möbelfabrikanten Karl Strecker und seiner Ehefrau Maria in Berlin geboren. Bis zum Jahre 1931 besuchte ich das Königstädtische Realgymnasium zu Berlin, das ich im März 1931 nach bestandenem Abiturientenexamen verließ.

Im Sommersemester 1931 begann ich mit dem Studium der Zahnheilkunde an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin. Oktober 1932 bestand ich das Physikum und erlangte Dezember 1935 die Approbation als Zahnarzt.